

氏 名 (本 籍) うめ ない たく せい
梅 内 拓 生

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 9 4 8 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 5 1 年 9 月 8 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 4 1 年 3 月

東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 The protective effect of 9-Methylstreptimidone
on *Candida albicans* infection in mice.
(9 - methyl streptimidon の マウス *Candida* 感 染 症
に 対 す る 防 御 効 果)

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 福 岡 良 男 教 授 新 津 泰 孝

教 授 石 田 名 香 雄

論 文 内 容 要 旨

白血病患者や他の悪性腫瘍患者における深部真菌感染症の合併頻度は極めて高く、かつその診断が困難なことから、治療に対する抵抗が高いことなどから深部真菌感染症は患者の予後をも決定する重大な合併症である。特に近年の抗細菌性抗生物質、抗腫瘍性抗生物質、副腎皮質ホルモン剤等の使用はその頻度を増加させてきている。今までにも深部真菌感染症に対する抗生物質としてアンホテリシンB等の薬剤が使用されてきたが、生体に対する毒性が高い点から充分有効な治療剤になりえていない。一方真菌感染症を考える場合、細胞性免疫など宿主側の有する防御反応を充分検討することが重要であることは言うまでもない。インターフェロン（IF）は従来知られている抗ウィルス作用以外にマクロファージ遊走阻止作用や免疫抑制作用を含む多くの生理活性を有することが知られている。一方IF誘起剤もIF産生以外に細菌や原虫の感染に対する防御効果やその他の多くの非特異的免疫作用を有することが知られている。しかし真菌感染症に対してはIF誘起剤であるPyranがマウスのCryptococcus感染症に有効であることの報告が1969年になされているだけで他に見当たらない。そこで我々は真菌感染症に対するIF誘起剤の有効性を明確にする目的で、先ず我々が開発した低分子IF誘起剤の9-MSについて、マウスのCandida症に及ぼす影響を追求した。

方 法 と 材 料

Candida感染症は、白血病患者の尿より分離したCandida albicans（U-50-1株）をサブロー寒天培地で37℃、24時間培養した後、集めた菌体を-PBSに懸濁し、18～20gのddI系メスマウスの尾静脈に注射して行った。9-MSはStreptomyces sp. S-885の培養濾液から抽出、精製した標品を用いた。臓器内Candidaの定量は、1群3匹のマウスからそれぞれ臓器を摘出し、海砂を乳鉢ですりつぶした後、-PBSで10%懸濁液を作り、サブロー寒天培地で混積培養を行い、48時間後のコロニーを数えた。9-MSやマウスIFのCandidaに対する直接作用は菌増殖の経時的变化を指標として行い、マウスIFの定量はL細胞よりClone化したThymidinekinase欠損のL-1D細胞対VSVの系でCPE法により行い、IF単位の算定はNIHの国際マウスIFを指標した。

成 績

1. Candida感染症に及ぼす9-MSの影響：U-50-1株をマウス当り 4×10^4 個静注すると、50%が感染死し、1LD₅₀に相当するが、約100倍の 4×10^6 個を感染させると生理

食塩水投与の対照群は全て感染後10日以内に死亡する。この時25~200mg/kg量の9-MSを感染24時間前に1回だけ投与すると20~30%のマウスが死をまぬがれ40日以上生存を続けた。更に感染量を10LD₅₀に下げて50mg/kgの9-MSを感染24時間前に1回投与すると、対照群が100%感染死したのに対して、47%という高い生存率が得られた。又、感染24, 3, 1時間前の3回投与では18%の生存率が得られたが、感染24時間後の1回投与や、感染1・3, 24時間後の連続投与では生存効果は全く見られず、逆に感染症の進行が早められた。

2. *Candida*感染症に及ぼすマウスIFの影響：NDVとL-MS細胞の系で産生したマウスIFについて、9-MSと同様の防御試験を行った。IFは腹腔内に、感染の24時間前より1日2回ずつ8日間連続投与した。15LD₅₀量を感染させると対照群は13日以内に100%が死に致すが、 5×10^5 U/kgのIFを投与すると、14%のマウスが40日以上生存を続けた。しかし、9-MS投与により得られた防御効果には遠く及ばない。

3. 9-MS及びマウスIFの*Candida albicans*に対する直接効果：サブロー液体培地1ml当たり 10^2 個の*Candida albicans*を接種し、37℃で静置培養すると培養24時間後には $10^{6.5}$ 個に増殖した。この時1.000mg/mlの9-MS及び 10^4 U/mlのマウスIFをそれぞれ最初から混入させ、同様に*Candida*の増殖を経時的に定量して行くと、ほぼ無処理同様の経過を辿り、抑制効果は全く認められなかった。

考 察

低分子IF誘起済9-MSは感染24時間前の1回投与により、マウスに於ける*Candida albicans*の全身感染症を高率に阻止する。又、*in vitro*で作成したIFを比較的大量連続投与しても、このような顕著な予防、治療効果を得ることは出来ない。一方9-MSは直接的な抗*Candida*作用を有していない。以上の事実からこの予防効果は、9-MSにより刺激された宿主がIFを含む非特異的生体防御機構を利用して、最終的に*Candida*感染症を克服した結果であると推論できる。

以上ここにIF誘起済9-MSがマウスの全身性*Candida*感染症において著明な防御効果を有することを明示し、かつ、このような免疫刺激剤が有する真菌感染に対する防御剤としての有力な可能性を提示した。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は放線菌の培養液中に産生される抗ウィルス性抗生物質 9-methylstreptimidone (9-MS)の真菌感染症に対する防禦効果とその機序の解析に関するものである。本抗生物質 9-MS がマウスにおいて強いインターフェロン(IF)誘起能をもっていることをすでに本研究者は報告したが、一般に IF 誘起剤はウィルス感染のみならず、細菌感染や原虫感染に対して強い防禦作用を有することが知られている。しかし真菌感染症に対しては非常に稀な 1 例を除いて有効であるという報告は見あたらない。本研究者は真菌感染症に対する IF 誘起剤の防禦効果とその機序を明確にするために 9-MS のマウス Candida 症に及ぼす影響を追求した。

U-50-1 株の *Candida albicans* 4×10^5 個 (10 LD₅₀ 相当) をマウスの尾静脈から感染させると生理食塩水対照群では 26 日以内にすべて死亡したが、50mg/Kg 量の 9-MS を感染の 24 時間前に 1 回だけ腹腔内に投与すると 47% のマウスが 40 日以上生存した。また、マウスの臓器内の *Candida* の増殖に対する影響をみみると、9-MS 処理マウスの腎および脳内では著明な *Candida* の増殖抑制がみられた。

NDV と L-MS 細胞の系で産生したマウス IF について、9-MS と同様の防禦試験を行なった。高濃度の IF (5×10^5 U/Kg) を *Candida* 感染前に 3 回、感染後に 1 日 2 回 8 日間連続投与したところ、対照群では 13 日以内に 100% が死に至るが、IF 群では 14% のマウスが 40 日以上生存した。しかし、9-MS 投与によって得られた防禦効果には遠く及ばなかった。

以上低分子 IF 誘起剤 9-MS が *Candida* 感染症に対し強力な防禦効果を有することを示し、かつその防禦効果について解析を行なった結果、この防禦効果はマクロファージ、IF を含む宿主の非特異的防禦機能の亢進に基づくことを示しており、本論文は学位授与に値するものと考えらる。